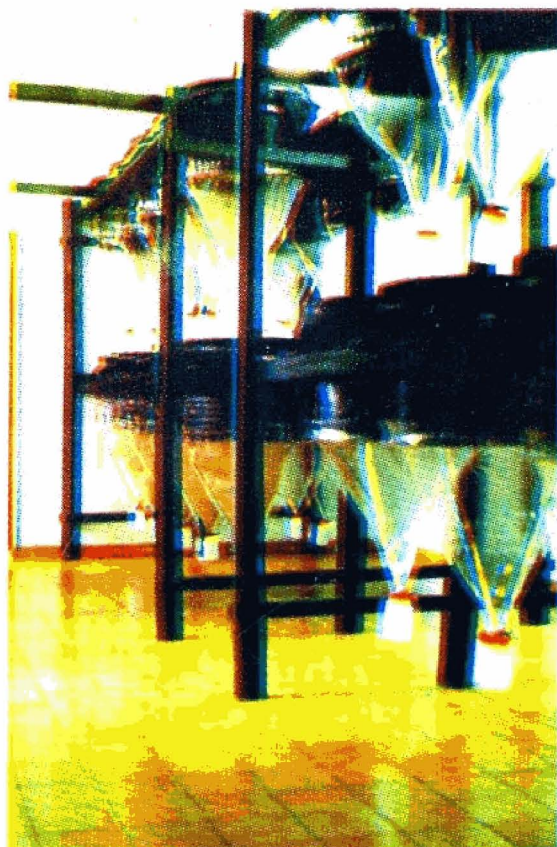


**BIOTECNOLOGIA DE PRODUÇÃO MASSAL
DE *Trichogramma* spp. ATRAVÉS DO
HOSPEDEIRO ALTERNATIVO *Sitotroga cerealella***



MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E DO ABASTECIMENTO - MA
EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA
CENTRO NACIONAL DE PESQUISA DE ALGODÃO - CNPA
CAMPINA GRANDE - PB

Circular Técnica Nº 19

**INSS 0100-6460
maio, 1996**

**BIOTECNOLOGIA DE PRODUÇÃO MASSAL
DE *Trichogramma* spp. ATRAVÉS DO
HOSPEDEIRO ALTERNATIVO *Sitotroga cerealella***

Raul Porfirio de Almeida



**Ministério da Agricultura e do Abastecimento - MA
Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA
Centro Nacional de Pesquisa de Algodão - CNPA
Campina Grande - PB**

Exemplares desta publicação podem ser solicitados à

EMBRAPA-CNPA
Rua Osvaldo Cruz 1143 - Centenário
Caixa Postal 174
Telefone (083) 341-3608
Fax (083) 322-7751

58.107-720 - Campina Grande, PB

Tiragem: 500 Exemplares

Comitê de Publicação do CNPA
Presidente: José da Cunha Medeiros
Secretária: Maria José da Silva e Luz
Membro: Eleusio Curvêlo Freire
Emídio Ferreira Lima
Francisco de Sousa Ramalho
José de Alencar Nunes Moreira
José Wellington dos Santos
Luiz Paulo de Carvalho
Odilon Reny Ribeiro Ferreira da Silva
Robério Ferreira dos Santos

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Algodão (Campina Grande, PB)

Biotecnologia de produção massal de *Trichogramma* spp. através do hospedeiro alternativo *Sitotroga cerealella*, por Raul Porfirio de Almeida. Campina Grande: EMBRAPA-CNPA, 1996. 36p. (EMBRAPA-CNPA. Circular Técnica, 19)

1. *Trichogramma* - Biotecnologia. I. Título. II. Série

CDD 595.7

EMBRAPA 1996

SUMÁRIO

	Página
1- INTRODUÇÃO.....	7
2- PRODUÇÃO MASSAL DE <i>Trichogramma</i>	10
2.1- Produção do Hospedeiro Alternativo	11
2.1.1- Qualidade e Descontaminação do Substrato de Alimentação.....	12
2.1.2- Infestação do Subtrato de Alimentação e Montagem das Unidades de Produção.....	14
2.1.3- Obtenção de Adultos e Coleta de Ovos de <i>S. cerealella</i>	16
2.1.4- Assepsia e Descarte dos Lotes de Produção Massal	17
2.2- Multiplicação e Parasitismo Através de <i>Trichogramma</i>	18
2.3- Armazenamento de Ovos de <i>S. cerealella</i>	24
3- ESTRUTURA FÍSICA E EQUIPAMENTOS UTILIZADOS.....	25
3.1- Sala de Armazenamento do Substrato de Alimentação	25
3.2- Sala de Produção Massal do Hospedeiro Alternativo	25
3.3- Sala de Postura de <i>S. cerealella</i>	28
3.4- Sala de Coleta/Preparo de Cartões e Armazenamento de Ovos.....	30
3.5- Sala de Parasitismo de <i>Trichogramma</i>	30
4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	32

BIOTECNOLOGIA DE PRODUÇÃO MASSAL DE *Trichogramma* spp. ATRAVÉS DO HOSPEDEIRO ALTERNATIVO *Sitotroga cerealella*

Raul Porfirio de Almeida¹

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Trichogramma* foi criado por Westwood em 1833, sendo a espécie-tipo *Trichogramma evanescens* Westwood coletada em Carvalho, na floresta do Epping, na Inglaterra (Flanders, 1930). É um inseto de tamanho bastante reduzido, com menos de um milímetro de comprimento. O período de desenvolvimento deste microhymenoptero, de ovo a adulto, é de oito dias em média, podendo reproduzir-se por partenogênese ou sexualmente.

Embora tenha preferência por ovos de lepidópteros, este parasitóide tem sido coletado em mais de 200 espécies de insetos pertencentes a mais de 70 famílias e 8 ordens (Morrison, 1985).

Os insetos da família dos tricogramatídeos são largamente utilizados em diversas culturas de importância agrícola, em vários países do mundo, tais como EUA (Ashley et al. 1974), França (Voegelé et al. 1975), China (Huffaker, 1977), Rússia (Beglyarov & Smetnik, 1977), México (Garcia, 1977) e Colômbia (Amaya, 1982). Espécies de *Trichogramma* ocorrem regularmente no campo, em países como Argentina, Bangladesh, Bulgária, China, Colômbia, Cuba, Egito, França, Índia, Iran, Itália, Japão, Malásia, Filipinas, Portugal, Romênia, Rússia, África do Sul, Suíça, Taiwan, EUA, Peru, Venezuela e Alemanha (International Symposium, 1994). Hinds & Spencer (1928, 1930) e Hinds et al. (1933) relataram o uso de *Trichogramma* nos EUA para o controle de *Diatraea saccharalis*, em cana-de-açúcar;

¹Pesquisador, Msc. da EMBRAPA/CNPA, Caixa Postal 174, CEP 58.107-720 - Campina Grande, PB

Stinner et al. (1974) relatam *Heliothis zea*, *Trichoplusia ni* e *Manduca* spp. como hospedeiras de *Trichogramma* em tomateiro. Na França foi usado para a cultura do milho, visando ao controle de *Ostrinia nubilalis* (Voegelé et al. 1975).

Segundo Kaijia et al (1991) na Rússia a produção massal de *Trichogramma* tem sido usada para controlar sete insetos-praga: *Dendrolimus punctatus*, *Philosia cynthia*, *Heliothis armigera*, *Diatraea saccharalis*, *Maruca testulalis*, *Diaphania indicata* e *Heliothis assulta*, nas províncias de Hubei, Guangdong, Guangxi e Henan. A área tratada ultrapassou os 1.300ha e a taxa de parasitismo foi superior a 80%. Nikonov et al. (1991) relataram o *Trichogramma* como o parasitóide de ovos mais amplamente usado (17 milhões de ha) em 70% da área onde se utiliza o controle biológico, a partir de liberações sazonais inundativas. São utilizadas 29 espécies de *Trichogramma* em diversas culturas e, entre elas, a do algodoeiro, para controlar a *H. armigera*.

Ridgway et al. (1981) relataram, como hospedeiros de *Trichogramma*, os gêneros *Vanessa*, *Artogeia*, *Hemerocampa*, *Heliothis*, *Trichoplusia*, *Oulema*, *Manduca*, *Limenistis*, *Cydia*, *Colias*, *Sialis* e *Protoparce*.

Na cultura algodoeira, segundo Bleicher & Parra (1990) pouco uso se faz do controle biológico, principalmente em face da falta de informações da biologia dos diferentes organismos, dentre os quais os tricogramatídeos, parasitóides de ovos que ocorrem freqüentemente atacando ovos da lagarta-da-maçã e do curuquerê do algodoeiro. O controle químico, de modo geral, tem sido utilizado de forma inadequada e indiscriminada, levando a desequilíbrios biológicos, os quais induzem a maior uso de pesticidas, provocando, muitas vezes, prejuízos totais.

Na cotonicultura brasileira, segundo Almeida et al. (1995) importantes pragas, como *Alabama argillacea* (curuquerê do algodoeiro) e *Heliothis virescens* (lagarta-das-maçãs) são hospedeiras de *Trichogramma*. Do mesmo modo, a *Pectinophora gossypiella* (lagarta rosada) tem sido observada em outros países como hospedeira deste parasitóide. Além da cultura do algodão, em outras culturas

como tomate, mandioca, soja, sorgo, amendoim, milho, cana-de-açúcar, morango, videira, macieira, arroz, hortaliças, pastagens e espécies florestais, dentre outras, são desenvolvidas pesquisas com o *Trichogramma* nos vários continentes do mundo.

Segundo Parra et al. (1987) nos últimos anos, em muitas regiões algodoeiras do Estado de São Paulo, a lagarta-da-maçã e o curuquerê do algodoeiro têm sido mantidos em equilíbrio pela ação natural de *Trichogramma* e/ou *Trichogrammatoidea*. Na região de Guaíra o parasitismo foi da ordem de 98% e 89%, respectivamente, para *A. argillacea* e *H. virescens*.

Liberações inundativas de *Trichogramma pintoi* e o comumente usado *Trichogramma dendrolini*, para controlar a *H. armigera* em campos de algodão, resultaram em 63,7% e 47,9% de parasitismo, respectivamente (Fucheng & Zhang, 1991).

Garcia-Roa (1991) relatou que na cultura do algodoeiro o controle químico de *H. virescens* e *H. zea* utilizando de 19 a 22 aplicações de inseticidas por ciclo da cultura, foi substituído pelo controle biológico das pragas através do emprego de *Trichogramma*, sendo o custo de controle reduzido de 42 até 92%. A eficiência de parasitismo tem atingido um nível de controle acima de 90%, proporcionando a redução e mesmo a eliminação do uso de produtos químicos.

Almeida et al. (1992) verificaram, em algodoeiro mocó, eficiente controle do curuquerê do algodoeiro através do *Trichogramma*, com percentuais máximos de parasitismo de 82,14% e 92,31%, em duas áreas de algodão.

Almeida et al. (1994) determinaram um parasitismo máximo de *Trichogramma* de 100% após a sétima amostragem e salientaram que existe uma correlação positiva altamente significativa entre o total de ovos do curuquerê e o número de ovos parasitados.

Almeida et al. (1995) comparando duas técnicas de liberação, uma utilizando adultos de *Trichogramma pretiosum* e outra cartões com ovos parasitados, verificaram parasitismo máximo de 71,02% e 71,03% sobre *A. argillacea*, em algodão arbóreo, respectivamente para ambas as técnicas estudadas.

Face à importância do controle biológico através da utilização de *Trichogramma* spp., para as mais variadas pragas de diversos agroecossistemas, este trabalho tem como objetivo apresentar a biotecnologia de produção massal de *Trichogramma*, que vem sendo conduzida pelo Centro Nacional de Pesquisa de Algodão - CNPA/EMBRAPA.

2. PRODUÇÃO MASSAL DE *Trichogramma*

As primeiras tentativas de criação massal de *Trichogramma* foram realizadas sobre *Phalera bucephala* L. (Lepidoptera, Pyralidae) (Flanders, 1930). Entretanto, foi Flanders (1927) que mostrou a possibilidade de se criar este parasitóide sobre o hospedeiro alternativo *Sitotroga cerealella* Oliv., 1819, dando um grande impulso para o desenvolvimento de tecnologias de criações massais de inseto.

Marston & Ertle (1973) consideraram as espécies *S. cerealella*, *Anagasta kuehniella* e *Corcyra cephalonica* (Lepidoptera, Pyralidae) como os hospedeiros mais comuns e mais eficientes para a criação massal de *Trichogramma*.

Para se obter uma produção de *Trichogramma* spp., é de importância fundamental possuir uma infra-estrutura para produzir o hospedeiro *S. cerealella* e conhecer bem os fatores que operam neste processo biológico, tais como temperatura, umidade relativa do ar, origem e qualidade do trigo, taxa de infestação, forma do gabinete, quantidade de bandejas e arranjo, controle preventivo de contaminação de insetos, qualificação da mão-de-obra, dentre outros, com o objetivo de obter uma boa eficiência de produção do parasitóide (Jimenez-Velasquez & Murgueritio, 1991).

Na Rússia, o *Trichogramma* tem sido produzido massalmente há dez anos, sobre ovos de *S. cerealella* (Nikonov et al. 1991). Segundo Stein (1985) existem 73 biofábricas totalmente mecanizadas, que produzem de 15 a 30 milhões de *Trichogramma* por dia. Nos EUA existem firmas particulares que produzem milhões desses parasitóides, facilmente adquiridos por agricultores para o tratamento de grandes áreas agrícolas. Na América do Sul, especialmente na Colômbia e Peru,

existem fábricas que comercializam o *Trichogramma* para controle de pragas do algodoeiro (Parra et al. 1987).

A tecnologia de produção massal conduzida pelo Centro Nacional de Pesquisa de Algodão - CNPA, é baseada na automação dos processos de produção massal, com o objetivo principal de obter a máxima produtividade por unidade de produção, com controle de qualidade e segurança no trabalho.

A metodologia para produção de *Trichogramma* envolve diversas etapas durante o processo de produção para se chegar ao produto final, que é o “Insumo Biológico”; foi adaptada e melhorada a partir da tecnologia existente nos vários países que detêm esta tecnologia de criação massal no mundo. Entretanto, para se produzir eficientemente o *Trichogramma*, é necessário uma supervisão constante, que possibilite o controle da qualidade, capaz de permitir a obtenção de excelente material biológico. A realização de cada etapa da produção é feita de forma que cada processo seja dependente um do outro. Essas etapas são apresentadas a seguir:

2.1 - Produção do Hospedeiro Alternativo

Na produção de inimigos naturais a serem utilizados em programas de controle biológico artificial de insetos-praga, faz-se necessário criar massalmente um hospedeiro alternativo que se multiplique facilmente e não afete o desenvolvimento do organismo benéfico. Neste sentido, para a multiplicação de *Trichogramma* a espécie denominada vulgarmente traça dos cereais, é uma das que apresentam excelentes condições de multiplicação em laboratório. Este inseto é uma mariposa cujo nome científico é *S. cerealella* Oliver, 1819 (Lepidoptera, Gelechiidae) e apresenta, segundo Navarro (1993) um ciclo biológico com duração de 28 a 32 dias. Sua capacidade de reprodução varia com o substrato, podendo ovipositar de 120 a 450 ovos. Durante seu ciclo biológico ataca grãos armazenados, principalmente de trigo, cevada, arroz, milho e sorgo.

A produção massal do hospedeiro alternativo envolve alguns aspectos básicos que devem ser considerados: qualidade e

descontaminação do substrato de alimentação, infestação do trigo e montagem das unidades de produção, obtenção de adultos e coleta de ovos de *S. cerealella* e assepsia e descarte dos lotes de produção, para dar início a um novo ciclo de produção. Na Figura 1 é apresentado o fluxograma de produção de *Trichogramma* sobre o hospedeiro alternativo *S. cerealella*.

2.1.1 - Qualidade e Descontaminação do Substrato de Alimentação

O trigo fornecido como alimento para a traça dos cereais deverá proporcionar uma excelente reprodução e multiplicação, razão pela qual devem ser observados alguns pré-requisitos para sua utilização.

O teor de umidade do grão deve estar entre 9 e 14%, assegurando o bom desenvolvimento da larva de *S. cerealella* e, de preferência, deve-se utilizar substrato proveniente de material produzido para semente e não para grão.

Para que a multiplicação de *S. cerealella* não sofra risco de contaminação com insetos e ácaros, deve-se fazer, antes da infestação do trigo com ovos da traça, o tratamento prévio, mediante expurgo, o qual deve ser feito à base de fosfeto de alumínio, durante aproximadamente 10 a 15 dias, para possibilitar a morte de organismos que apresentem algumas das fases de seu desenvolvimento não suscetíveis ao tratamento.

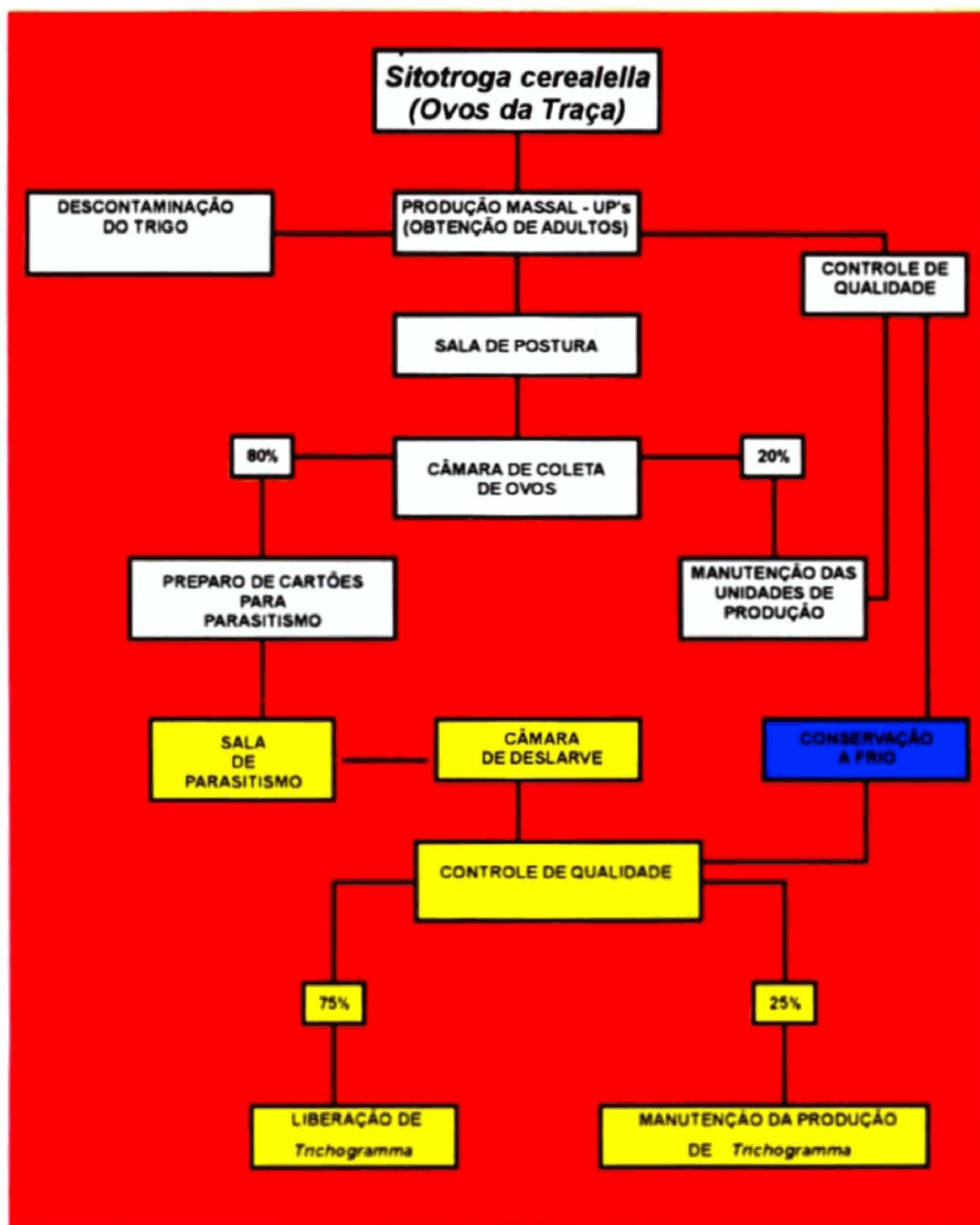


Figura 1. Fluxograma de produção massal de *Trichogramma* sobre o hospedeiro alternativo *Sitotroga cerealella*

PRODUÇÃO DE *S. cerealella*
 PRODUÇÃO DE *Trichogramma* spp.
 ARMAZENAMENTO

2.1.2- Infestação do Substrato de Alimentação e Montagem das Unidades de Produção

O trigo, após devidamente tratado, está apto para ser utilizado na criação das traças nas Unidades de Produção (UP) (Figura 2). Cada UP deve conter 4 bandejas com capacidade para 4kg de trigo; este tipo de bandeja propicia o acondicionamento do trigo de forma bem distribuída, permitindo uma boa aeração e movimentação dos insetos, sem que sejam afetados; as bandejas são dispostas horizontalmente e cruzadas entre si. Antes da colocação do trigo elas devem ser previamente tratadas com óleo diesel.

A infestação do trigo é feita com 1,3g de ovos da traça/kg de substrato (Jimenez-Velasques & Murgueritio, 1990) acondicionados em recipientes de plástico, que devem ser colocados nas bandejas de recepção do substrato de alimentação do hospedeiro alternativo.

A técnica de colocar os ovos em recipientes de plástico e estes nas bandejas de recepção do substrato, possibilita a verificação da qualidade dos ovos postos após a eclosão das lagartas. Este método tem por finalidade facilitar a determinação da viabilidade do material infestado e verificar a presença das diversas formas de desenvolvimento de insetos e ácaros.

Após 15 dias da eclosão das lagartas, o trigo de cada UP deve ser limpo, fazendo-se o peneiramento para se retirar as impurezas, como pó resultante da atividade das lagartas, pedaços de grão e outros



Figura 2. Unidade de Produção do hospedeiro alternativo *Sitotroga cerealella* (Foto: Almeida, R.P. de)

materiais. Após o peneiramento , o enxofre em pó é adicionado ao trigo de cada UP.

O uso de enxofre tem como finalidade o tratamento do trigo contra ácaros. Após este processo, o trigo é novamente acondicionado nas bandejas e estas introduzidas nas UP's.

A determinação do período de montagem entre um lote e outro é feita em função da seguinte fórmula:
$$IUP = \frac{TVUP}{NL} ;$$

onde: IUP - Intervalo de montagem da unidade de produção

TVUP - Tempo de vida útil da unidade de produção

NL - Número de lotes

Isto permite manter um ciclo contínuo de produção de todas as Unidades de Produção.

2.1.3- Obtenção de Adultos e Coleta de Ovos de *S. cerealella*

Aproximadamente 28 dias após a instalação das unidades de produção, ocorre a emergência dos primeiros adultos, sendo a primeira coleta iniciada entre os terceiro e quinto dias após esta fase, quando existe número suficiente de insetos. Após a primeira coleta, os recipientes contendo as mariposas são retirados das UP's e transferidos para a sala de postura, onde serão procedidas coletas subseqüentes, durante quatro dias, permitindo o aproveitamento máximo dos ovos postos.

A separação dos ovos deve ser feita em função do número da coleta (1ª., 2ª., 3ª., 4ª. e 5ª.) em relação a cada UP e para cada lote, visando principalmente à sua utilização (parasitismo ou infestação do trigo para iniciar nova criação).

Todo o processo de coleta dos ovos deve ser feito em câmara, de forma hábil, para evitar o mínimo de perda de mariposas; os ovos que ficam aderidos no fundo dos recipientes devem ser coletados com o auxílio de pincel; estes ovos se encontram geralmente agrupados e são de coloração alaranjada, devendo-se utilizá-los para infestação de novas UP's.

Na coleta dos ovos deve-se verificar a presença de escamas e patas das mariposas, as quais são observadas em maior quantidade na primeira coleta, diminuindo nas coletas subseqüentes, até a quinta. Para se eliminar ou reduzir as impurezas sobre os ovos, deve-se limpá-los mediante uso de peneira de malha fina; em seguida, os ovos devem ser pesados e posteriormente utilizados para o parasitismo, infestação de novas UP's ou armazenamento.

O piso das salas de produção massal e de postura de *S. cerealella* deve ser pulverizado com óleo diesel, para evitar a ocorrência de organismos, principalmente de ácaros. A sala de postura deve ser mantida em condições controladas de temperatura e umidade relativa do ar (UR) média de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ e $70 \pm 5\%$, respectivamente. Entretanto, limites maiores de temperatura e umidade podem ser utilizados para criação de *S. cerealella*. Navarro (1993) considera que a UR é um fator muito mais crítico, principalmente quando ocorre acima de 90% e abaixo de 60%. Em casos de alta umidade relativa do ar em condições naturais, deve-se utilizar desumidificador, para evitar a ocorrência de contaminação das mariposas por bactéria.

2.1.4- Assepsia e Descarte dos Lotes de Produção Massal

O descarte dos lotes de produção inicia-se com o término do ciclo de produção, que deve ter duração de aproximadamente 60-70 dias.

Segundo Almeida & Lyra Neto (1994) quando se utiliza o trigo como substrato de alimentação, 98,27% de toda a produção de ovos da traça são obtidos após os 62 primeiros dias do início da coleta dos ovos. Vargas & Amaya (1980) verificaram que, durante os primeiros 60 dias da criação, se obtém de 80 a 85% da produção total.

Outro aspecto importante que determina o tempo de vida útil das UP's é que, após o período de produção, os grãos de trigo se tornam muito suscetíveis ao surgimento principalmente de ácaros, limitando a produção de ovos. Por outro lado, têm-se verificado que a

criação da traça pode conviver com níveis aceitáveis de populações de ácaro sem, com isso, comprometer a produção; entretanto, a ocorrência de ácaros é indesejável, porque pode levar à contaminação de outras UP's e comprometer vários lotes da criação.

Todas as UP's destinadas ao descarte devem ser conduzidas para o exterior do laboratório, onde serão colocadas sobre suporte de madeira; cada UP receberá, no seu interior, um chumaço de algodão contendo clorofórmio para matar as mariposas, devendo esse processo ter a duração de um a dois dias; em seguida, o trigo contido nas UP's deverá ser incinerado. As UP's devem ser limpas com detergente.

2.2 - Multiplicação e Parasitismo através de *Trichogramma*

O *Trichogramma* é um parasitóide que apresenta o período de desenvolvimento, de ovo a adulto, em média de oito dias, sendo realizado no ovo de seu hospedeiro. O adulto pode viver em média 10 dias (Mesquita et al., 1990).

O início da criação do parasitóide deve ser realizado, preferencialmente, a partir de adultos obtidos de ovos da praga em condições de campo, ou seja, de indivíduos adaptados às condições naturais dos agroecossistemas alvo do controle biológico. A renovação da linhagem de *Trichogramma* deve ser realizada a cada 3 meses, para evitar que os espécimes fiquem extremamente adaptados às condições de laboratório e percam a sua eficiência, ao serem liberados na área de cultivo.

Os cartões a serem preparados para o parasitismo por *Trichogramma* devem ter área padronizada de 50 polegadas quadradas (25,4cm x 12,7cm); são de coloração preta, subdivididos em quadriculas de 1 polegada quadrada (2,54cm x 2,54cm) no lado oposto onde serão colados os ovos da traça (Figura 3). Os cartões devem apresentar, ainda, os seguintes dados, para melhor controle da identificação do material e seu eficiente manejo: nome do produtor ou empresa responsável, endereço, nome comercial do produto, nome da

espécie do parasitóide utilizado, número do lote de produção, data de parasitismo e data da possível emergência do produto biológico.

Os cartões se constituirão, após o parasitismo, no “Insumo Biológico”, ou seja, no produto final propriamente dito a ser liberado pelo agricultor.

O preparo do Insumo Biológico é feito na sala de coleta/preparo de cartões e armazenamento de ovos; inicialmente, os cartões são pinçelados com goma arábica e em seguida os ovos da traça são depositados sobre os cartões com auxílio de peneira, para que os ovos fiquem aderidos e dispostos um ao lado do outro, de forma que fiquem colados por uma de suas extremidades; isto é

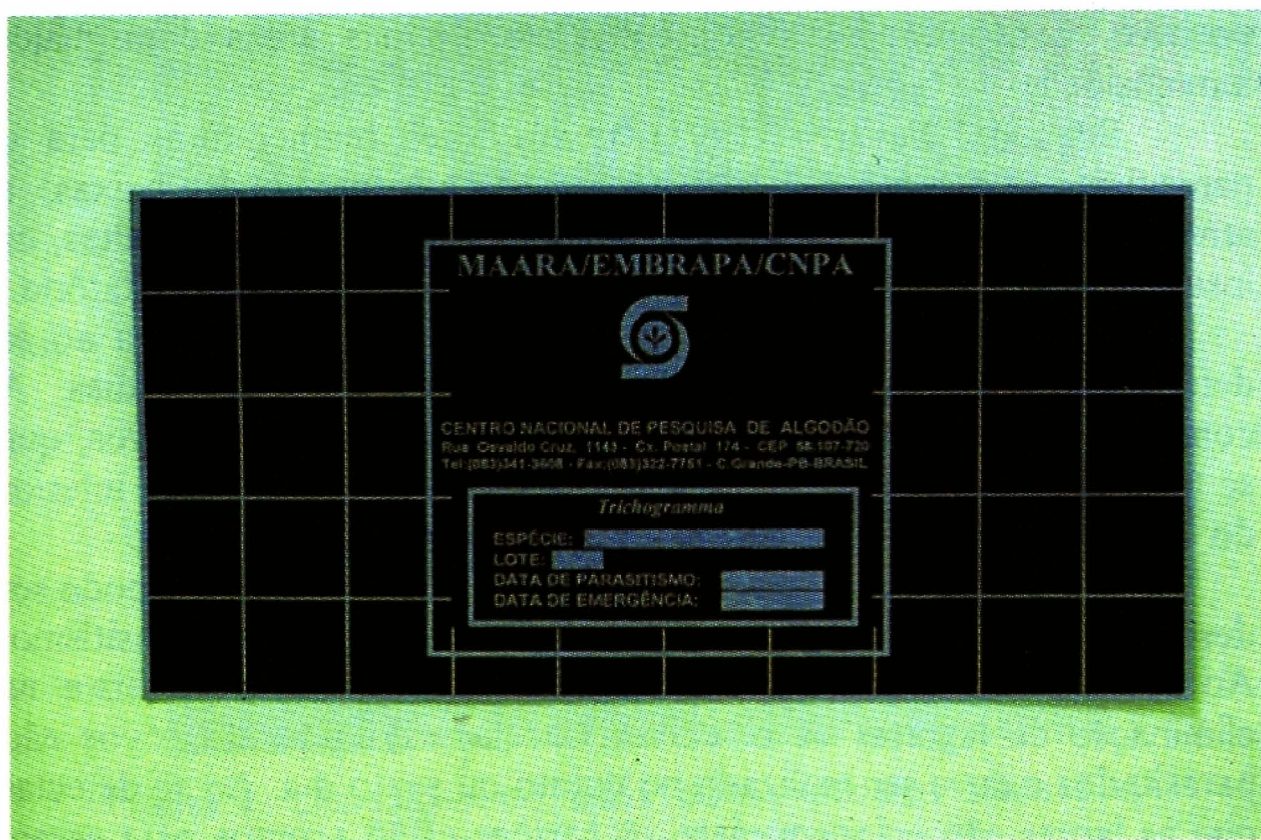


Figura 3. Cartão utilizado para o preparo do Insumo Biológico (Foto: Almeida, R.P. de)

possível devido à sua forma mais ou menos elíptica; posteriormente, deve-se bater com um dos lados do cartão para eliminar o excesso de ovos não aderidos, sendo este processo realizado numa mesa específica para o preparo de cartões (Figura 4).

Os ovos de *S. cerealella* utilizados devem ser de postura de primeiro e segundo dias. Nesta fase do desenvolvimento embrionário os ovos do hospedeiro alternativo apresentam coloração esbranquiçada.

O parasitismo deve ser feito em câmara apropriada ou em recipientes transparentes (Figura 5) em ambiente contendo pouca luz, ou seja, a penumbra, para propiciar maior uniformidade de parasitismo, em toda a área do cartão, devido ao *Trichogramma* ser fototrópico positivo, concentrando-se conseqüentemente nas áreas com maior luminosidade.

Segundo Navarro (1993) as melhores temperaturas para o parasitismo estão entre 27 e 29 °C ; em temperaturas muito baixas, a atividade é deficiente ou quase nula; em temperaturas muito altas, os insetos morrem rapidamente, sem se obter uma oviposição satisfatória.

A introdução do cartão a ser parasitado deve ser feita ao se detectar a emergência dos primeiros adultos, aos oito dias. A confirmação do parasitismo é detectada pela coloração dos ovos, que se tornam pretos devido à deposição de excrementos fecais no interior do ovo da traça (Figura 6).

O cartão utilizado para o parasitismo de novos cartões pode ser descartado 3 ou 4 dias após sua introdução na câmara de parasitismo. Ao término deste processo, efetua-se o deslarve, que consiste na eliminação de lagartas de *S. cerealella* que eclodiram dos ovos não parasitados e deve ser realizado no quinto ou sexto dia. Ao se detectar que as larvas não eclodem mais, os cartões estão prontos para serem fornecidos aos agricultores, podendo ser liberados na área de cultivo ou para o armazenamento a frio.

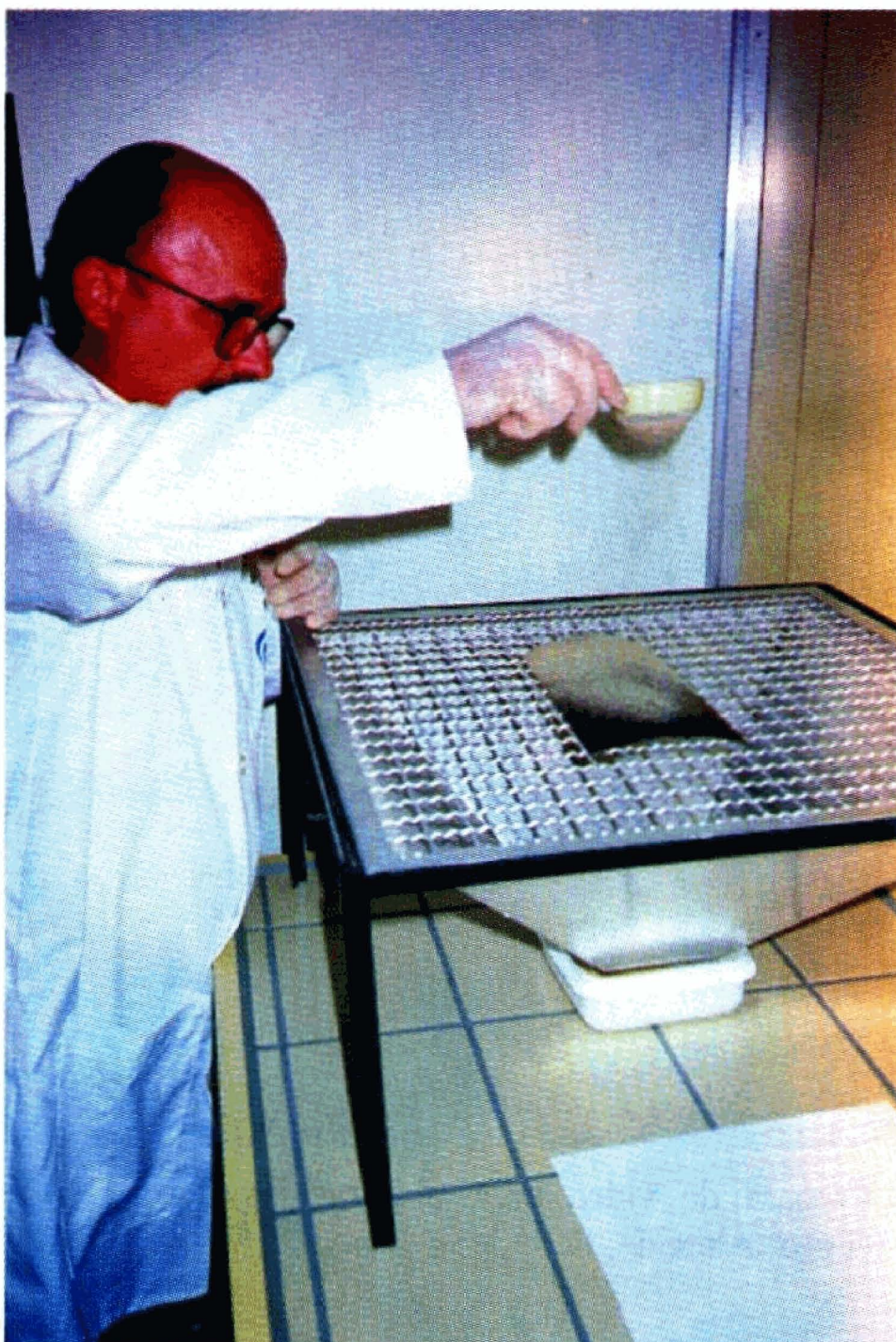


Figura 4. Deposição de ovos do hospedeiro alternativo sobre cartão a ser utilizado para o parasitismo (Foto: Almeida, R.P. de)



Figura 5. Câmara de vidro para o parasitismo por *Trichogramma*
(Foto: Almeida, R.P. de)

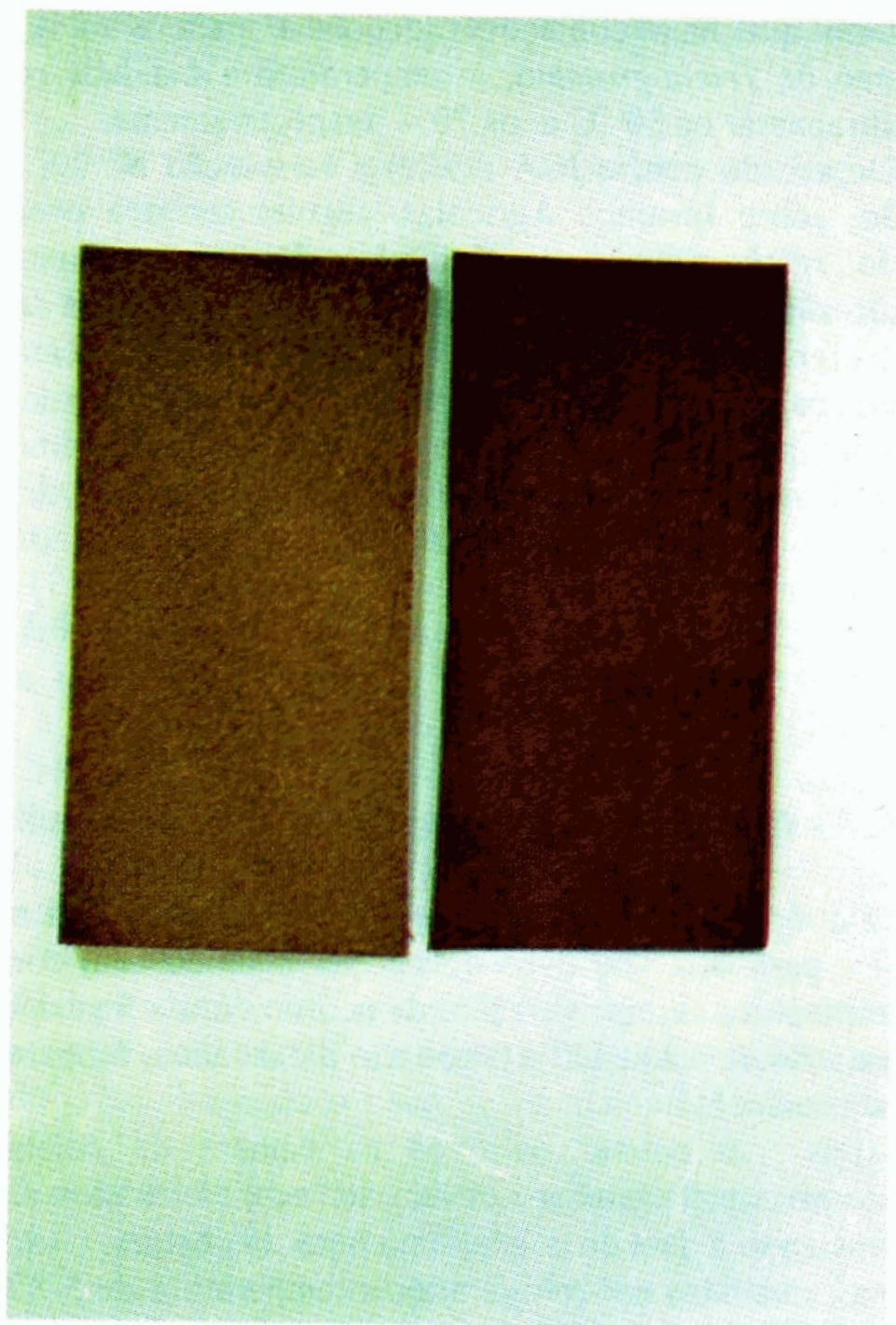


Figura 6. Cartão com ovos de *S. cerealella* não parasitados (à esquerda) e parasitados (à direita) (Foto: Almeida, R.P. de)

Para que haja condições adequadas para a multiplicação e parasitismo de *Trichogramma*, a temperatura e umidade relativa não devem ultrapassar os 30 °C e os 70%, respectivamente.

De acordo com o ICA (1990) a Resolução N° 20, contida na legislação, sobre Insumos Agrícolas, regulamentou a produção e a venda do *Trichogramma* na Colômbia. Dentre os capítulos desta Resolução são apresentadas as “Normas Gerais”, que se referem aos métodos e análises do insumo biológico. Deste modo, características desejáveis na produção de *Trichogramma* devem fazer parte do controle de qualidade na avaliação dos cartões, e são enumeradas a seguir: 1) quantidade média de ovos de *S. cerealella* de 3.000; 2) percentual de parasitismo não inferior a 80%, ou seja, cada polegada quadrada deve conter no mínimo 2.400 ovos parasitados; 3) percentual de adultos emergidos não inferior a 85%; 4) razão sexual igual ou superior a 0,5 e 5) ausência de adultos atípicos, que apresentem características fenotípicas anormais ou não, superior a 2%.

2.3 - Armazenamento de Ovos de *S. cerealella*

O armazenamento deve preservar a qualidade dos ovos de *S. cerealella*; para isto, os ovos devem ser mantidos em condições de baixa temperatura em refrigeração, de acordo com a finalidade de uso, para infestação de novas UP's (ovos não parasitados) ou para liberação (ovos parasitados)

Após se coletar os ovos na câmara de coleta, aqueles destinados ao armazenamento devem ser acondicionados em saco de papel, constando a data de coleta, o número da postura, o lote e o peso em gramas, mantidos em refrigerador a temperatura de 5-8°C. O saco de papel deve ser revestido por saco plástico aberto, para facilitar a aeração e evitar excesso de umidade.

Os cartões destinados a liberação devem também ser armazenados em refrigerador a temperatura de 8-10°C. O período máximo de armazenamento deve ser de 15 a 20 dias, para preservar a viabilidade e a qualidade dos ovos parasitados.

3. ESTRUTURA FÍSICA E EQUIPAMENTOS UTILIZADOS

A base física para produção massal de *Trichogramma* deve apresentar a seguinte estrutura:

3.1 - Sala de Armazenamento do Substrato de Alimentação

O armazenamento do trigo deve ser realizado utilizando-se silos verticais, cujo objetivo principal é evitar problemas de contaminação por artrópodos indesejáveis (Figura 7).

3.2- Sala de Produção Massal do Hospedeiro Alternativo

Preferencialmente, deve-se utilizar mais de uma sala para produção massal (Figura 8) por permitir separar melhor os lotes de produção, diminuindo os riscos de contaminação generalizada em toda a produção. A quantidade de lotes deve ser compatível com o número de UP's utilizadas.

Para produções em grande escala não é aconselhável utilizar lotes com mais de 100 UP's, devido à dificuldade de se controlar as pragas de grãos, havendo o risco de contaminação de todas as UP's (Navarro, 1993).

A unidade de produção para criação do hospedeiro alternativo apresenta os seguintes componentes:



Figura 7. Armazenamento do trigo em silos (Foto: Almeida, R.P. de)



Figura 8. Sala de produção massal do hospedeiro alternativo *S. cerealella* (Foto: Almeida, R.P. de)

- a) Cilindro de ferro, com suporte para sustentação das bandejas de recepção de trigo e alças laterais para transporte. Cada cilindro é confeccionado a partir de um tambor com capacidade para 200 litros, dividido ao meio e retiradas as partes superior e inferior do tambor
- b) pano preto para vedação da abertura superior da UP
- c) bandejas de recepção de trigo com tela metálica
- d) funil de plástico transparente - para possibilitar a coleta das mariposas para o recipiente de coleta
- e) recipiente de coleta de mariposas
- f) redução 50-40 para conexão de funil - recipiente de coleta de mariposas
- h) ligas de borracha - para auxiliar na vedação do pano preto colocado na parte superior, do funil de plástico na parte inferior de cada UP e para o ajuste e conexão do funil de plástico com a redução de 50-40.

Para melhor aproveitamento do espaço no laboratório deve-se utilizar suporte das unidades de produção com compartimentos em dois andares.

3.3- Sala de Postura de *S. cerealella*

A sala de postura (Figura 9) é o local onde serão feitas as posturas dos ovos da 2ª à 5ª coleta do hospedeiro alternativo, após a transferência dos recipientes de coleta da traça das UP's. A primeira coleta de ovos deve ser feita imediatamente após a retirada do recipiente de coleta das UP's. Nesta sala, as condições ambientais são rigorosamente controladas para as necessidades ótimas de desenvolvimento da traça; devendo-se utilizar o termohigrógrafo para se registrar as condições diárias de temperatura e umidade relativa do ar. Para ajustar estas condições, são utilizados o desumidificador e o condicionador de ar.



Figura 9. Sala de postura do hospedeiro alternativo *S. cerealella* (Foto: Almeida, R.P. de)

3.4 - Sala de Coleta/Preparo de Cartões e Armazenamento de Ovos

Nesta sala, a coleta dos ovos é realizada em uma “câmara de coleta de ovos” (Figura 10) cuja característica principal é a segurança do laboratorista durante o processo de coleta, evitando ao máximo o seu contato com as escamas provenientes das asas das mariposas, que pode resultar em problemas alérgicos.

A câmara de coleta de ovos é equipada com exaustor, cuja finalidade é succionar as escamas e patas das mariposas e quaisquer outras impurezas presentes nos recipientes de coleta da traça. O exaustor é acoplado a uma tubulação adaptada para direcionar o fluxo de ar para fora do laboratório; materiais como peneira, funil, pincel e bacia plástica são utilizados na coleta dos ovos.

A mesa utilizada para o preparo dos cartões é provida de uma tela na parte superior, sobre suporte de ferro, de um funil com formato de prisma seccionado e de um recipiente de coleta para os ovos que excederem o cartão preparado. A pesagem dos ovos de *S. cerealella* é realizada em balança digital, assim como a avaliação do controle de qualidade é feita através de microscópio estereoscópico, o armazenamento de ovos parasitados e não parasitados em refrigerador, a assepsia e a limpeza de todo material utilizado para coleta/preparação de cartões também são feitas nesta sala.

3.5- Sala de Parasitismo de *Trichogramma*

A sala de parasitismo destina-se à multiplicação do *Trichogramma* em grande escala, para liberação; as condições naturais do ambiente devem ser mantidas para evitar a perda da agressividade e eficiência do parasitóide. São utilizadas para o parasitismo câmaras de vidro.



Figura 10. Câmara de coleta de ovos do hospedeiro alternativo *S.cerealella* (Foto: Almeida, R.P. de)

4 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, R.P. de; BRAGA SOBRINHO, R.; ARAÚJO, L.H. A.; SOUZA, J.E.G.; DIAS, J.M. Eficiência de parasitismo de *Trichogramma* sobre o curuquerê do algodoeiro. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Algodão (Campina Grande, PB). **Relatório técnico anual -1990/1991**. Campina Grande, 1992. p. 107-110.
- ALMEIDA, R.P. de; BRAGA SOBRINHO, R.; ARAÚJO, L.H. A.; SOUZA, J.E.G.; DIAS, J.M. Eficiência de parasitismo de *Trichogramma* sobre o curuquerê do algodoeiro. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Algodão (Campina Grande, PB). **Relatório técnico anual -1992/1993**. Campina Grande, 1994. p. 83-85.
- ALMEIDA, R.P. de; LIRA NETO, J.F.de. Período viável de produção de ovos da traça *Sitotroga cerealella* para criação de *Trichogramma*. In: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Algodão (Campina Grande, PB). **Relatório técnico anual - 1992/1993**. Campina Grande, 1994. p. 88-89.
- ALMEIDA, R.P.; SILVA, C.A.D. da; SOARES, J.J. *Trichogramma*: alternativa eficiente de controle biológico de insetos pragas da cultura algodoeira. **CNPA Informa**, n.18, p. 08, ago. 1995.
- AMAYA, M.M. Investigación, utilización y resultados obtenidos en diferentes cultivos con el uso de *Trichogramma*, en Colombia, Sur América. In: SYMPOSIUM INTERNATIONAL, 1, 1982. Antibes. **Les Trichogrammes**. Paris: INRA, 1982. p.201-207.
- ASHLEY, T.R.; ALLEN, J.C. ;GONZALEZ, D. Successful parasitization of *Heliothis zea* and *Trichoplusia ni* eggs by *Trichogramma*. **Environmental Entomology**, College Park, v. 3, n. 2, p. 319-22, 1974.

- BEGLYAROV, G.A.; SMETNIK, A.I. Seasonal colonization of entomophages in the URSS. In: RIDGWAY, R.L.; VINSON, S.B. **Biological control by augmentation of natural enemies**. New York: Plenum Press, 1977. p.283-328.
- BLEICHER, E.; PARRA, J.R.P. Espécies de *Trichogramma* parasitóides de *Alabama argillacea*. II. Tabela de vida de fertilidade e parasitismo de três populações. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.25, n.2, p.207-214, fev. 1990.
- FLANDERS, S.E. Biological control of the codling moth (*Carpocapsa pomonella*). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v.20, p.644, 1927.
- FLANDERS, S.E. Mass production of egg parasites of the genus *Trichogramma*. **Hilgardia**, California, v.4, n.16, p.465-501, 1930.
- FUCHENG, W.; ZHANG, S. *Trichogramma pinto* (Hym.: Trichogrammatidae): deuterotoky, laboratory multiplication and field releases. In: WANJNBERG, E; VINSON, S.B. **Trichogramma and other egg parasitoids**. France: INRA, 1991.p. 151-152.
- GARCIA, R.J. **Memorias de la V Reunión Nacional de control biológico y sector agropecuario organizado**. Victoria, México: S.A.R.H. Departamiento de Control Biológico, 1977. 25 p.
- GARCIA-ROA, F. Effectiviness of *Trichogramma* spp. in biological control programs in the Cauca Valley, Colombia. In: WANJNBERG, E; VINSON, S.B. **Trichogramma and other egg parasitoids**. France: INRA, 1991.p. 197-199.
- HINDS, W.E.; SPENCER, H. Utilization of *Trichogramma minutum* for control of sugarcane borer. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.21, p.273-279, 1928.
- HINDS, W.E.; SPENCER, H. Progress in the utilization of *Trichogramma minutum* in cane borer controls in Louisiana during

1929. **Journal of Economic Entomology**, College Park, v.23, p.121-127, 1930.

HINDS, W.E.; OSTERBERGER, B.A.; DUGAS, A.L. **Review of six session's work in Louisiana in controlling sugarcane moth borer by field colonization of its egg parasites *Trichogramma minutum* Riley**. Louisiana: Agricultural Experiment Station, 1933. 24p. (Bulletin, 248).

HUFFAKER, C.B. Augmentation of natural enemies in the people's Republic of China. In: RIDGWAY, R.L. ; VINSON, S.B. **Biological control by augmentation of natural enemies**. New York: Plenum Press, 1977. p. 329-339.

ICA. **Legislacion Colombiana sobre insumos agricolas : resolucion N. 20 de 1900**. s.l., Ministério de Agricultura, 1990. p. 229-244. (Manual Administrativos, n. 21).

INTERNATIONAL SYMPOSIUM, 4, 1994. Cairo. ***Trichogramma and other egg parasitoids***. Cairo: Institute for Biological Pest Control, 1994. 50 p.

JIMENEZ-VELASQUEZ, J.; MURGUERITIO, C. Egg production characterization of *Sitotroga cerealella* Oliver (lep. Gelechiidae) under laboratory condition in Palmira, Colombia. In: WANJNBERG, E; VINSON, S.B. **Trichogramma and other egg parasitoids**. France: INRA, 1991.p. 145-146.

KAIJIA, D.; MA, Z.; ZHANG, L.; CAO, A.; ZHAN, Q.; XU, K.; PAN, D.; ZHANG, J. Research on technology of industrial production of the artificial host egg of *Trichogramma*. In: WANJNBERG, E; VINSON, S.B. **Trichogramma and other egg parasitoids**. France: INRA, 1991.p. 137-139.

MARSTON, N.; ERTLE, L.R. Host influence on the bionomics of *Trichogramma minutum*. **Annals of the Entomological Society of America**, College Park, v.66, n.5, p.1155-1162, 1973.

- MESQUITA, C.K. de; BRAGA SOBRINHO, R.; ARAUJO, L. H. A.; ALMEIDA, R.P.de. Efeito do alimento na longevidade do *Trichogramma pretiosum* Riley, 1879 (Hymenoptera, Trichogrammatidae). In: REUNIÃO NACIONAL DO ALGODÃO, 6., 1990. Campina Grande, PB. **Resumos....** Campina Grande: EMBRAPA-CNPA, 1990. p.41.
- MORRISON, R.K. *Trichogramma* spp. In: SINGH, P.; MOORE, R.F. **Handbook of insect rearing**, s.l., s.ed., 1985. p.413-417.v.1.
- NAVARRO, M.A. **El *Trichogramma* spp.: producción, uso e manejo en Colombia**. Buga - Valle del Cauca : s.ed., 1993. 184 p.
- NIKONOV, P.V.; LEBEDEV, G.I.; STARTCHEVSKY, I.P. *Trichogramma* production in the USSR. In: WANJNBERG, E; VINSON, S.B. ***Trichogramma* and other egg parasitoids**. France: INRA, 1991.p. 151-152.
- PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; SILVEIRA NETO, S. A importância de *Trichogramma* no controle de pragas na agricultura. **Agrotécnica**, São Paulo, n.1, p.12-15, 1987.
- RIDGWAY, R.L.; ABLES, J.R., GOODPASTURE, C.; HARTSTACK, A.W. ***Trichogramma* and its utilization for crop protection in the United States**. College Station: Entomology Society of America, 1981. p.41-48.
- STINNER, R.E.; RIDWAY, R.L.; COPPEDG, J.R.; MORRISON, K.K.; DICKERSON, JR., W.A. Parasitism of *Heliothis* eggs after field releases of *Trichogramma pretiosum*. **Enviromental Entomology**, College Park, v.3, p.497-500, 1974.
- VARGAS, M.L.; AMAYA, M. **Estudio sobre la cria masiva de *Sitotroga cerealella* (Olivier) y la conservación en frío de sus huevos**. Ibagué: Universidad del Tolima. Facultad de Agronomía, 1980. 35 p. (Tese de graduação).

OEGELÉ, C.P.; STENGEL, M.; SCHUBERT, G.; DAUMAL, J.; PIZZOL, J. Les Trichogrammes V (a) - premiers résultats sur l'introduction en alsace sous forme de lichers saisonniers de l'écotype moldave de *Trichogramma evanescens*. West. contre la pyrale du maïs, *Ostrinia nubilalis* Hubn. **Anales Zoologie Ecologie Animale**, Versailles, v. 7, n. 4, p. 535-551, 1975.

